

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA

E.A.P. DE NUTRICIÓN

**“Composición química y actividad antioxidante *in vitro*
del extracto acuoso
de *Nostoc sphaericum* (Cushuro), laguna Cushurococha –
Junín”**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciada en Nutrición

AUTOR

Lourdes Pilar Chávez Hidalgo

ASESORES

Acela Inés Arnao Salas

Lima – Perú

2014

“Nos estamos enfrentando al gran desafío de mejorar la salud y la calidad de vida triste e irónicamente, a pesar de que contamos con conocimientos para evitarlo, demasiada gente sufre de malestares y enfermedades que podrían prevenirse y controlarse con la dieta y el estilo de vida. Muchos malestares y enfermedades degenerativas como obesidad, hipoglucemia, diabetes, cardiopatías, cáncer y artritis y otras muchas otras enfermedades degenerativas y de origen infeccioso podrían evitarse comiendo de manera saludable, manteniendo un peso normal y haciendo ejercicio durante toda la vida”.

Asamblea Mundial de la Salud; OMS; OPS; FAO; UNICEF

DEDICATORIAS

A Dios por brindarme la oportunidad y la dicha de la vida y los medios necesarios para continuar mi formación como profesional.

A mis padres y hermanos que permanentemente me han apoyado con su espíritu alentador, contribuyendo incondicionalmente a lograr mis metas y objetivos propuestos.

A la Magíster Inés Arnao Salas quien labora con la materia más valiosa de nuestra patria, las mentes.

AGRADECIMIENTOS

Mi gratitud, principalmente está dirigida al Dios por haberme dado la existencia y permitido llegar al final de la carrera.

A mis padres y hermanos que me han acompañado durante el largo camino, brindándome siempre su orientación con profesionalismo ético en la adquisición de conocimientos y afianzando mi formación.

Igualmente a mi asesora la Magister Inés Arnao Salas quien me ha orientado en todo momento en la realización de este proyecto que enmarca un escalón hacia un futuro en donde sea participe en el mejoramiento.

El presente trabajo de tesis fue desarrollado en el laboratorio del Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición "Alberto Guzmán Barrón". Facultad de Medicina – Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

ÍNDICE

RESUMEN

SUMMARY

1. INTRODUCCIÓN	11
1.1 Objetivos General	20
1.2 Objetivos Específicos	20
2. METODOLOGÍA	21
2.1 Tipo de investigación	21
2.2 Población	21
2.3 Muestra biológica	21
2.4 Recolección de las muestras	21
2.5 Materiales	22
2.5.1 Reactivos	22
2.5.2 Equipos	22
2.6 Análisis proximal	23
2.7 Identificación botánica	23
2.8 Preparación del extracto acuoso	23
2.9 Barrido espectral	24
2.10 Determinación de la composición química del extracto acuoso liofilizado	25
2.10.1 Determinación de proteínas solubles	25

2.10.2 Determinación de carbohidratos totales	27
2.11 Determinación de la actividad antioxidante del extracto acuoso liofilizado	29
2.11.1 Determinación de Vitamina C	29
2.11.2 Determinación de fenoles totales	32
2.11.3 Determinación de la actividad antioxidante por el ensayo captación de ABTS ⁺	34
3. RESULTADOS	38
3.1 Identificación botánica del <i>Nostoc sphaericum</i> (Cushuro) fresco	38
3.2 Análisis proximal del <i>Nostoc sphaericum</i> fresco	38
3.3 Rendimiento del extracto acuoso liofilizado	38
3.4 Barrido espectral	38
3.5 Determinación de la composición química del extracto acuoso liofilizado	39
3.5.1 Proteínas solubles	39
3.5.2 Carbohidratos totales	39
3.6 Determinación de la actividad antioxidante del extracto acuoso liofilizado	40
3.6.1 Vitamina C	40
3.6.2 Fenoles totales	41

3.6.3 Actividad antioxidante por el ensayo de captación de ABTS ^{•+}	42
4. DISCUSIÓN	45
5. CONCLUSIONES	51
6. RECOMENDACIONES	52
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
8. ANEXOS	59

RESUMEN

Objetivo: Determinar la composición química y actividad antioxidante in vitro del extracto acuoso liofilizado de *Nostoc sphaericum* (Cushuro) de la laguna Cushurococha, Junín.

Materiales y métodos: Estudio de enfoque cuantitativo; con diseño, descriptivo, observacional, transversal, la muestra biológica fue el extracto acuoso liofilizado de *Nostoc sphaericum* (Cushuro) que se recolectó de la laguna Cushurococha en el departamento de Junín. Se utilizaron los métodos Lowry, Antrona, Folin-Ciocalteu, el ensayo de captación de ABTS⁺.

Resultados: La cantidad, por muestra liofilizada, de proteínas solubles fue de 15.1mg/g, carbohidratos totales 949ug/g, polifenoles totales 2.98mg EAG/g; así también, el porcentaje de inhibición del radical ABTS⁺ a una concentración de 0.15mg/mL de muestra liofilizada fue de 52%, un valor de IC50 entre 10-15 ug/mL y una capacidad antioxidante equivalente a trolox (TEAC-ABTS) igual a 0.384 ugEq. Trolox/ mg extracto de muestra seca. **Conclusiones:** El extracto acuoso liofilizado de *Nostoc sphaericum* constituye una buena fuente natural de antioxidantes.

Palabras clave: Capacidad antioxidante, *Nostoc*, composición química, extracto acuoso liofilizado.

SUMMARY

Objective: To determine the chemical composition and in vitro antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of *Nostoc sphaericum* (Cushuro) of Cushurococha, Junín lagoon. **Materials and Methods:** Quantitative research approach; with design, descriptive, observational, cross-sectional, the biological sample was lyophilized aqueous extract of *Nostoc sphaericum* (Cushuro) that was collected from the lagoon Cushurococha in the department of Junín. The method of Lowry, Anthrone, Folin-Ciocalteu, assay ABTS⁺ capture methods were used. **Results:** The amount, lyophilized sample of soluble proteins was 15.1mg / g, total carbohydrates 949ug / g, total polyphenols 2.98mg GAE / g; so too, the percentage inhibition of ABTS⁺ radical at a concentration of 0.15 mg / mL of lyophilized sample was 52%, an IC50 value between 10 to 15 ug / mL and trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC-ABTS) equal to 0.384 ugEq. Trolox / mg dry extract sample. **Conclusions:** The lyophilized aqueous extract of *Nostoc sphaericum* is a good natural source of antioxidants.

Keywords: Antioxidant capacity, *Nostoc*, chemical composition, freeze-dried aqueous extract.

1. INTRODUCCIÓN

Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que contienen un electrón desapareado y para alcanzar su estabilidad electroquímica captan un electrón de otros átomos y como consecuencia los enlaces que forman no son por compartición de electrones **(1)**.

La respiración mitocondrial, base de la producción de energía en todos los eucariotas, genera radicales libres por una difusión de productos intermediarios de la cadena de transporte de electrones. En condiciones normales, las células metabolizan la mayor cantidad de oxígeno (O_2) con la formación de agua, sin la formación de intermediarios tóxicos y sólo un pequeño porcentaje (5%) forman tres intermediarios altamente tóxicos: aniones superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo (OH^\cdot) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) **(2)**.

Es así que se habla del oxígeno, compuesto indispensable para los organismos aeróbicos, que participa en la generación de especies reactivas de oxígeno a nivel de la mitocondria y se encuentra en su forma más estable como O_2 de esta manera es poco reactivo y en condiciones fisiológicas su velocidad de reacción es baja. Sin embargo, ya sea por reacciones químicas o por efecto de las radiaciones ionizantes se producen sustancias prooxidantes que son moléculas o radicales libres altamente reactivos capaces de dar lugar a múltiples reacciones con otros compuestos presentes en el organismo y que llegan a producir daños oxidativos en las células **(3)**.

El organismo humano produce radicales libres como metabolismo de los alimentos ingeridos, la respiración, el ejercicio y cuando se está expuesto a algunos elementos del medio ambiente es el caso del tabaco, aditivos químicos en los alimentos procesados y pesticidas. Pero no todos los radicales libres son peligrosos pues, por ejemplo, las células del sistema inmune producen radicales libres para matar bacterias y virus, pero si no hay un control suficiente por los antioxidantes las células sanas pueden ser dañadas **(4)**.

El daño o estrés oxidativo es la exposición de la materia viva a diferentes fuentes que producen un desequilibrio entre las sustancias oxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas sustancias. Este desequilibrio se puede dar por el incremento exagerado de la producción de sustancias oxidantes o por el déficit de defensas antioxidantes. Todo esto trae como consecuencia alteraciones de la relación estructura-función en cualquier órgano, sistema o grupo celular especializado (5)

Los radicales libres se dividen en inorgánicos o primarios, que son los radicales derivados del oxígeno y los radicales libres orgánicos o secundarios como los radicales derivados del nitrógeno (4).

Los primarios se originan por transferencia de electrones sobre el átomo de oxígeno y se caracterizan por tener una vida media muy corta; estos son el O_2^- , OH^- y el H_2O_2 . A diferencia de los primarios los secundarios se originan de la transferencia de un electrón del radical primario a un átomo de una molécula orgánica o por la reacción de dos radicales primarios entre sí, tienen una vida media un poco más larga que la de los primarios (6).

En cantidad, las principales especies reactivas del oxígeno que se generan durante la respiración celular son el anión superóxido (O_2^-) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el que a su vez da origen al radical hidroxilo (OH^-). El anión superóxido y el radical hidroxilo son especies altamente reactivas pues poseen uno o más electrones desapareados, capaces de provocar reacciones en cadena cuyo daño en las membranas celulares puede ser irreversible y llegar incluso hasta la muerte celular (7).

El radical hidroxilo tiene alta reactividad y corta vida media, por lo que es capaz de reaccionar con todo tipo de biomoléculas; las más vulnerables son los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs). Así también la producción de radicales hidroxilos, a través de la reacción de Fenton, está facilitada por metales de transición como Cu^{2+} y Fe^{2+} , que catalizan esta reacción (8).

Cuando la generación de radicales libres sobrepasan las defensas antioxidantes del organismo, cual sea el mecanismo (radicaciones UV, contaminación ambiental, entre otros), se

produce un daño por lesión química de las estructuras biológicas y macromoléculas, proceso denominado estrés oxidativo **(9)**.

En los lípidos se produce un daño mayor en un proceso llamado peroxidación lipídica que ataca a los lípidos poliinsaturados (PUFAs) de las membranas celulares, produciendo así fluidez y lisis celular **(10)** ya que reacciona con el radical hidroxilo perdiendo así átomos de hidrógeno de sus grupos metilos y estos a su vez se transforman en radicales lipoperóxidos que si no son neutralizadas continuarán con las reacciones **(11)**.

En las proteínas hay oxidación en los aminoácidos como la fenilalanina, tirosina, histidina y metionina que forman entrecruzamientos de cadenas peptídicas y finalmente se forman los grupos carbonilos. Esto produce modificaciones en la estructura terciaria de las proteínas, incrementando la pérdida de la función biológica. En la oxidación de los ácidos nucleicos y nucleótidos se presentan modificaciones de las bases de las moléculas del ADN y ruptura de una o de la doble cadena y pérdida de nucleótidos, se altera el sistema de reparación al presentar una mutación antes de la replicación, produciendo así genes mutados y por ende proteínas disfuncionales **(12)**.

Así también el organismo dispone de sistemas de defensa antioxidante que actúan impidiendo la formación de radicales libres, bloqueando su propagación o interaccionando directamente con ellos **(13)**.

El antioxidante al reaccionar con el radical libre le cede un electrón, oxidándose y transformándose en un radical libre no tóxico. Los antioxidantes pueden ser enzimáticos o no, además de ello estos se clasifican en endógenos (encontrándose en el organismo y son sintetizados por las células) y los antioxidantes exógenos que ingresan a través de la dieta. Los antioxidantes endógenos son la catalasa, peroxidasas y superóxido dismutasa por otro lado algunos de los exógenos son la vitamina C, Vitamnina E, betacarotenos, flavonoides, polifenóles entre otros **(5)**.

Los compuestos fenólicos o polifenoles, constituyen un grupo bastante amplio de sustancias químicas, que se caracterizan por presentar en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos y abarcan a más de 8000 compuestos distintos y han demostrado

poseer importante actividad antioxidante. El organismo humano no los produce y se les encuentra en plantas, frutas y diversas bebidas **(14)**.

La vitamina C neutraliza al oxígeno singlete, captura los radicales hidroxilos y aniones a su vez regenera la forma oxidada de la vitamina E. Esta por su parte, captura aniones superóxidos y radicales libres de hidroxilo, también neutraliza al oxígeno singlete y a los peróxidos **(3)**. Así también los betacarotenos también neutralizan al oxígeno singlete, además de ello es necesario la incorporación al organismo de algunos oligoelementos como el cobre, hierro, zinc, selenio, manganeso ya que estos forman parte del núcleo activo de las enzimas antioxidantes **(6)**.

Las radicales libres pueden iniciar procesos patológicos graves en el ser humano, como son procesos reumáticos, renales, endocrinos, de ellas las más destacadas son las cardiopatías, aterosclerosis, cáncer y diabetes **(1)**.

Las dietas ricas en antioxidantes, parecen prevenir o al menos disminuir el deterioro funcional orgánico originado por un exceso de estrés oxidativo. Así una dieta rica en frutas, nueces, cereales, y verduras pueden proteger algunas enfermedades como el cáncer **(15, 16)**. Es por ello que la ingesta de antioxidantes presente en los alimentos es un factor protector de la salud importante. En estudios anteriores se han mostrado de modo *in vitro* que el perejil presenta evidente efecto antioxidante **(17)**, al igual que las fresas y un efecto mucho mayor en otros alimentos, como naranja, brócoli, ajos, cebolla, limón, pimienta, cebolla china, betarraga, hojas de coca y anís evaluados frente a sistemas generadores de O_2^- y OH^- **(13)**.

Estos datos han conducido a la realización de estudios con el fin de identificar los componentes específicos responsables de los efectos positivos en la salud al momento de consumir estos alimentos de origen vegetal. Una explicación que ha encontrado una gran aceptación, es aquella en la cual refiere que se debería a la presencia de sustancias antioxidantes tales como la vitamina C y E, carotenoides, flavonoides, selenio y otros **(18)**.

La medición de los antioxidantes individuales no permite conocer con certeza la capacidad antioxidante total de una muestra ya que los compuestos interactúan entre sí pudiendo producirse efectos sinérgicos o inhibitorios entre los antioxidantes presentes en él **(19)**. Es así

que existen diversos métodos para determinar la actividad antioxidante como es el de captación de 2,2-azino-bis (-6-sulfónico 3-etilbenzotiazolina ácido) (ABTS⁺), el método 2,2-difenil- 1-picril hidracilo (DPPH) y los métodos donde se determinan compuestos antioxidantes como el método Folin Ciocalteu para la determinación de compuestos fenólicos y el método espectrofotométrico para la determinación de Vitamina C.

Como ya se expuso, hay diferentes métodos para la determinación de la actividad antioxidante entre ellos el método 2,2-difenil- 1-picril hidracilo (DPPH) planteado por Brand-Williams basado en la neutralización del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracil (DPPH) este radical es estable y con él se mide la capacidad de secuestro de compuestos con actividad antioxidante, la solución del reactivo de DPPH es de color violeta. La reacción química consiste en que el radical libre DPPH sustrae un átomo de hidrógeno proveniente de un donador (compuesto químico puro o extracto), producto de este cambio se desarrolla un cambio de color, de violeta a amarillo, al disminuir la concentración del radical libre **(20)**.

También está el método 2,2-azino-bis (-6-sulfónico 3-etilbenzotiazolina ácido) (ABTS⁺) esta técnica registrada por Miller y otros en 1993, se basa en el principio de la formación del radical catión ABTS⁺ este radical presenta una coloración verde azulada. La presencia de antioxidante en la mezcla produce una supresión de la formación del radical y por ende de la coloración, siendo la misma proporcional a la actividad antioxidante **(21)** y el método de Folin para la determinación de fenoles totales está basado en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes **(22)**.

Por otro lado existen diversos métodos para la determinación de la composición química de una muestra como por ejemplo el método Lowry, este, es un método colorimétrico de valoración cuantitativa de las proteínas solubles **(23)**, también está el método Antrona que sirve para la determinación de carbohidratos totales donde se utiliza ácido sulfúrico para la hidrólisis de enlaces glicosídicos **(24)**.

Los organismos marinos constituyen una fuente potencialmente útil junto a su diversidad química. Se debe considerar que algunas algas constituyen importantes reservorios de nutrientes (proteínas, vitaminas, minerales, polisacáridos), de sustancias bioactivas (ácidos grasos poliinsaturados, aminoácidos, polifenoles, antioxidantes) y otros **(25)**.

Las cianobacterias son también conocidas como algas verde-azules por la coloración que las identifica. Su nombre lo recibe del prefijo griego “*cyanos*” que significa azul, aludiendo a su coloración, comprenden un grupo de microorganismos presentes en ecosistemas terrestres, de agua dulce y salada, fundamentales como productores primarios en la cadena alimenticia acuática. Son organismos procariotas, y se engloban en el reino monera, comparten características comunes con otras bacterias fotosintéticas, así como con el resto de las bacterias ya que presenta pared celular de tipo procariota, ausencia de membrana nuclear y de orgánulos; así también presenta características de las algas, su tamaño y maquinaria fotosintética. La mayoría presentan un metabolismo fotoautotrófico y aeróbico. Algunas especies se utilizan en alimentación por su alto contenido en proteínas, vitaminas y otros factores de crecimiento, como es el caso de *Spirulina* y el *Nostoc* (26).

Las cianobacterias pueden ser *Prochloron* y *Cianofitas* como los *Crococales* y *Nostocales*. Las colonias de *Nostoc sp.* generalmente son gelatinosas y esféricas que se reúnen a manera de cuentas de rosario, formando tricomas sencillos, éstos flotan libremente por el borde de las superficies de las lagunas, charcos, puquios y diversos ambientes húmedos altoandinos (19).

En un estudio realizado sobre la composición química y la actividad antioxidante de un alga marina roja, se demostró que dicha especie, respecto a su composición centesimal, contenía cantidades bajas de proteínas (9.5%) y lípidos (1.3%) y valores altos de minerales y carbohidratos que podrían explicar el contenido alto de cenizas (43%). Respecto a su actividad antioxidante según el ensayo con DPPH evidenciaba una actividad antioxidante baja (27).

Así también en otro estudio de 4 especies de algas, presentaron un contenido alto de minerales y azúcares totales, un contenido moderado de proteínas y un contenido bajo de lípidos. Además de ello el estudio confirmó que estas algas podrían ser una importante fuente de antioxidantes (28).

Respecto a la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos en extractos de macroalgas del Caribe Colombiano se obtuvieron como resultado que estas algas pueden ser una nueva fuente natural de antioxidantes, encontrándose una alta actividad antioxidante directamente proporcional al contenido de compuestos fenólicos, para ello se usó la actividad captadora del radical libre DPPH (29).

Una investigación sobre la actividad antioxidante *in vitro* de extractos de algas verdes del litoral de la Costa de Brasil, afirman que el contenido de compuestos como carotenoides y fenoles fue alto. Por otro lado mencionan que el extracto donde se encontró mayor actividad antioxidante fue en los extractos metanólicos (hidroalcohólicos) **(30)**.

Las algas tienen como un rasgo distintivo la presencia de compuestos polisacáridicos y compuestos simples sulfatados, así como florotaninos y bromofenoles, algunos de ellos con actividad antioxidante. Adicionalmente contienen metales como Se, Zn, Mn y Cu que son componentes fundamentales de enzimas antioxidantes y también pudieran contribuir a sus propiedades antioxidantes al ser consumidos por el hombre **(31)**.

En el Perú se consume y usan algas desde épocas remotas, como testimonio de tal afirmación existe la representación del alga marina *Macrocystis pirifera* en un ceramio de la cultura Nazca, así también, algunas especies de *Gigartina chamissoi* “cochayuyo”, “mococho”, “yuyo” han sido encontrados al estado secos en yacimientos residuales pre-colombinos lo que presume que fue consumido en épocas del Incanato. En el norte del Perú se conocen y consumen en la alimentación humana varias especies de *Gigartina* y en el sur se consume *Porphyra columbina* con el nombre de “cochayuyo”. De igual forma, actualmente se consume en la sierra peruana cinco especies de *Nostoc* “cushuro”, “llullucha” o “murmunta” y una especie de *Monostroma* “lechuga de río” **(19)**.

En los últimos treinta años hay un creciente interés por los problemas relacionados con el estrés oxidativo, los radicales libres, las especies reactivas de oxígeno y los antioxidantes, todo esto dado a la importancia que poseen en la bioquímica, la biología y la medicina, existiendo evidencias que demuestran que el estrés oxidativo contribuye con el proceso de envejecimiento y con la patología de enfermedades crónicas no transmisibles.

Existen varios trabajos tanto epidemiológicos como experimentales en los cuales se expone la relación existente entre el estrés oxidativo y algunas enfermedades, así como también la relación de los antioxidantes de la dieta en la prevención de enfermedades como el cáncer. Respecto al cáncer mamario uno de los factores de riesgo asociado a esta enfermedad es el factor ambiental donde se incluye el estilo de vida y la dieta, dentro de ésta los factores señalados que aumentan el riesgo de cáncer mamario es la obesidad, el alto consumo de

grasa total y grasa saturada, el consumo de carne al carbón quemada o muy cocida y la ingesta de alcohol. Por otro lado los factores que reducen el riesgo son el consumo de frutas y verduras, el consumo de carotenoides, el consumo de soya, algas marinas y el aumento de la actividad física **(16)**.

Así también el estudio MONICA de la Organización Mundial de la Salud (OMS) mostró una correlación inversa entre los niveles de vitamina E y la mortalidad por infarto del miocardio en 16 ciudades europeas. El Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS) agrupó a 2000 pacientes con enfermedad coronaria comprobada por coronariografía, que fueron divididos en 2 grupos a uno se le administró un placebo y al otro grupo 800 UI de vitamina E; después de un seguimiento de 510 días se observó una disminución de la mortalidad por infarto del miocardio en el grupo tratado **(6)**.

Por otro lado en el Informe Global de 2009 de la OMS, en el 2004 América Latina y El Caribe concentraron la mayor carga por enfermedades no transmisibles siendo este el 62.1% y en segundo lugar estuvieron las enfermedades transmisibles (22.3%). Como padecimiento de relevancia, en este mismo informe, se ve que además de la depresión y la violencia estuvieron las enfermedades isquémicas del corazón, las enfermedades cerebrovasculares y la diabetes. Es así que las enfermedades no transmisibles, en especial las cardiovasculares, el cáncer y la diabetes, causaron en el año 2005 el 60% de las defunciones a nivel mundial donde los más afectados por estas enfermedades son los países de ingresos bajos y medianos. En tal medida estas enfermedades pueden ser prevenibles modificando cuatro factores de riesgo como son el consumo de tabaco, inactividad física, el consumo nocivo de alcohol y una alimentación inadecuada **(32)**.

Según el porcentaje de años de vida sanos perdidos (AVISA) según grupos de categorías en el año 2004, en el Perú la mayor causa fue por enfermedades crónicas no transmisibles (60.1%) **(33)**.

Por ello debemos hacer un hincapié en la educación nutricional de las personas para que así puedan optar por otras comidas que sean saludables como las frutas, verduras, entre otros ya que a nivel nacional en el Perú el 87,1% de la población encuestada manifestó comer frituras con frecuencia semanal (al menos 1 vez por semana) y solo el 1,7% manifestó no consumir

frituras. Estos valores de consumo de frituras semanal tuvieron una ligera disminución en los pobladores de la sierra rural quienes manifestaron en el 80,8% de los casos comer fritura semanalmente (al menos una vez por semana) (34).

En la actualidad las enfermedades crónicas no transmisibles causadas por el estrés oxidativo como la cardiopatía, el cáncer y la diabetes son ahora las causas principales de enfermedad y muerte en América Latina y el Caribe como ya se han mencionado con anterioridad. Esta situación se debe al aumento de varios factores de riesgo prevenibles, en especial la alimentación inadecuada. Por ello la eliminación de estas causas requiere acciones políticas y sociales de las cuales los programas nutricionales pueden ser un aspecto. La oferta de alimentos suficientes, inocuos y variados no sólo previene la malnutrición sino que también reduce el riesgo de sufrir enfermedades crónicas.

Los cambios alimentarios en todo el mundo que ha venido ocurriendo conforme pasan los años incluyen una dieta con mayor densidad energética, lo que significa más grasa y más azúcar añadido en los alimentos, una mayor ingesta de grasas saturadas (principalmente de origen animal) unida a una disminución de la ingesta de carbohidratos complejos y de fibra, y una reducción del consumo de frutas y verduras. Estos cambios alimentarios se combinan con cambios del modo de vida que reflejan una reducción de la actividad física en el trabajo y durante el tiempo de ocio.

En cuanto al consumo de alimentos las familias comuneras de Junín acostumbran recolectar algas comestibles, tubérculos silvestres, entre otros productos naturales para complementar su dieta alimentaria. Entre las algas comestibles identificados están: Cushuro o murmunta, llullucha (*Nostoc* sp) y zetas (qoncha), la recolección de estos productos es durante el periodo de lluvias (Diciembre - Abril), teniendo mayor éxito entre los meses de febrero y abril.

Si bien se han realizado estudios de propiedades antioxidantes de algas en otros países, en Perú no se han estudiado estas propiedades en cianobacterias dulceacuícolas que se desarrollan por encima de los 4000 m.s.n.m., por ello con este estudio habrá un mayor conocimiento de nuestros recursos en base a sus propiedades antioxidantes.

1.1 Objetivo General

- Determinar la composición química y actividad antioxidante *in vitro* del extracto acuoso liofilizado de *Nostoc sphaericum* (Cushuro) de la laguna Cushurococha, Junín.

1.2 Objetivos Específicos

- Determinar la composición química: proteínas solubles y carbohidratos totales del extracto acuoso liofilizado de *Nostoc sphaericum*.
- Determinar la actividad antioxidante *in vitro* del extracto acuoso liofilizado de *Nostoc sphaericum*.

2. METODOLOGÍA

2.1 Tipo de investigación

Estudio de enfoque cuantitativo; con diseño, descriptivo, observacional, transversal.

2.2 Población

La población estuvo constituida por las cianobacterias de la especie *Nostoc sphaericum* (Cushuro) que habitan en la laguna Cushurococha del departamento de Junín.

2.3 Muestra biológica

Extracto acuoso liofilizado de *Nostoc sphaericum* (Cushuro).

2.4 Recolección de las muestras

La laguna Cushurococha se encuentra dentro del departamento de Junín, con una extensión de más o menos 215 m². El *Nostoc sphaericum* (Cushuro) fue recolectado de la laguna Cushurococha en marzo del 2013.

Teniendo la laguna las mismas características de ecosistema se dividió en dos partes para luego tomar las muestras de la parte menos accesible a la población. Se recolectaron 12 bolsas de cushuro de 180g (más o menos 1 puñado) cada una del borde de una de las mitades de la laguna como se muestra en la **Figura 1** haciendo un aproximado de 2kg de Cushuro. Se trasladaron las muestras en un cooler hasta el Laboratorio de Investigación de Bioquímica y Nutrición “Alberto Guzmán Barrón” de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para el respectivo análisis.



Figura 1: Recolección del *Nostoc sphaericum* (Cushuro) en la laguna Cushurococha

2.5 Materiales

2.5.1 Reactivos

- ✓ Reactivos SIGMA:
 - Anthrona > 90% (TLC)
 - Albumin, bovine serum, ≥96% Essentially Fatty Acid Free
 - Ácido gálico
- ✓ Todos los demás reactivos químicos fueron de grado analítico.

2.5.2 Equipos

- ✓ Baño Maria. Bench Scale Equipment
- ✓ Balanza Analítica. Sartorius. Max 220g / d = 0.1mg
- ✓ Centrífuga modelo GT119 - 300 – Greetmed

- ✓ Microcentrífuga. COO3E. Hasta 13000 rpm Power Spin
- ✓ Centrífuga. Sorvall Super speed
- ✓ Espectrofotómetro NV 203 – Greetmed
- ✓ Licuadora. Nationalizer
- ✓ Refrigeradora eléctrica. COLDEX
- ✓ Vórtex. Labline instrument, Inc.
- ✓ Espectrofotómetro Labomed

2.6 Identificación botánica del *Nostoc sphaericum* (Cushuro)

El Cushuro se estudió y clasificó en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para ello se llevó 100g de Cushuro.

2.7 Análisis proximal del *Nostoc sphaericum* (Cushuro) fresco

El análisis proximal del Cushuro se realizó en el Laboratorio de Bioquímica, Nutrición y Alimentación Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, para ello se llevó 500g de Cushuro fresco.

2.8 Preparación del extracto acuoso

El *Nostoc sphaericum* (Cushuro) fue sometido a una eliminación manual de pajas, hojas, piedras y algas rotas luego se lavó con abundante agua de caño y luego bidesdestilada para lograr la eliminación de posibles microorganismos asociados.

Se sometió a un proceso de escurrido a temperatura ambiente en un colador hasta obtener un peso constante y después se distribuyó en recipientes para ser guardados a -20°C hasta la preparación del extracto acuoso tal como se muestra en el siguiente esquema mostrado en la **Figura 2**:

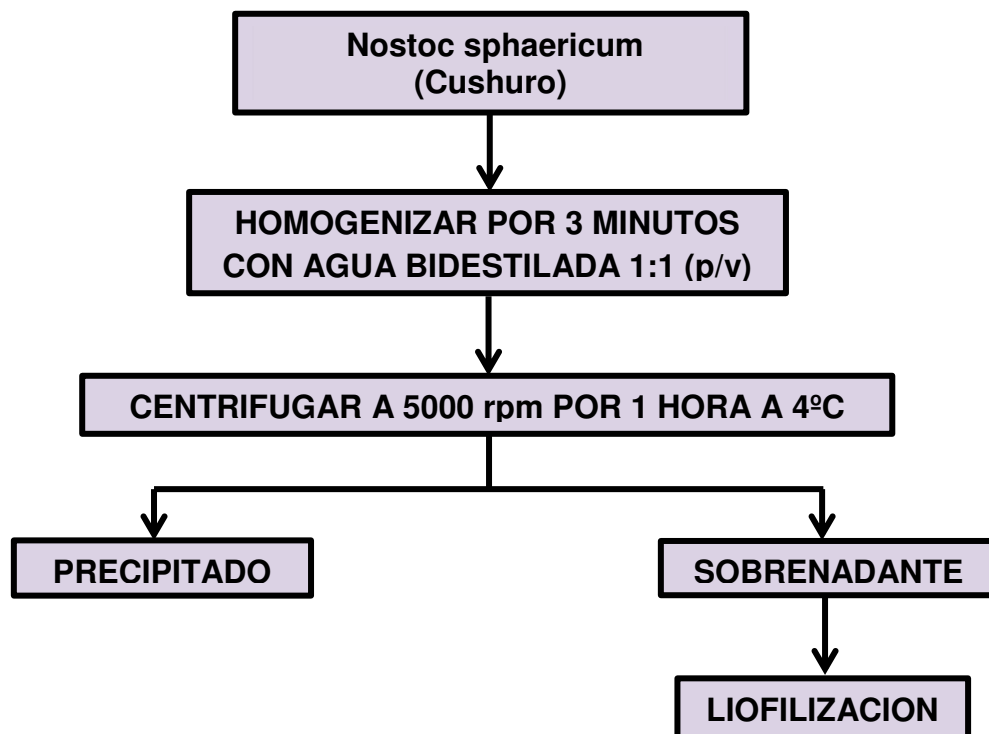


Figura 2: Preparación del extracto acuoso

El extracto acuoso se envió a liofilizar a la Unidad de Servicios de Análisis Químicos (USAQ) de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos después de ello, el liofilizado se guardó en un frasco ámbar y éste en un desecador a 2°C hasta su uso.

La muestra se analizó por duplicado en tres fechas independientes.

2.9 Barrido espectral del extracto acuoso de *Nostoc sphaericum* (Cushuro)

Se llevó a cabo un barrido espectral de una solución de extracto acuoso liofilizado de *Nostoc sphaericum* (Cushuro) al 1% (p/v), usando un espectrofotómetro marca Labomed en el rango de absorbancia de 200 a 800nm. Para efectuar el barrido se hizo una dilución de la muestra 1:10, se usó

como blanco agua destilada y las lecturas se efectuaron en una cubeta de cuarzo.

2.10 Determinación de la composición química del extracto acuoso liofilizado de *Nostoc sphaericum* (Cushuro)

2.10.1 Determinación de proteínas solubles

- **Fundamento:** En medio alcalino los iones Cu^{2+} se unen a las proteínas formando complejos con los átomos de nitrógeno de los enlaces peptídicos. Estos complejos Cu^{2+} -proteína tienen un color azul claro. Después se da la reducción del reactivo de Folin-Ciocalteu por los grupos fenólicos de los residuos de tirosina presentes en la mayoría de las proteínas, el cobre actúa como catalizador. El reactivo de Folin-Ciocalteu es de color amarillo, que al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso que se lee a 700nm **(35)**.
- **Reactivos:**
 - ✓ Reactivo Cúprico $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.1%) / Tartrato Na y K (0.2%)
 - ✓ Reactivo Alcalino (Na_2CO_3 1M/ NaOH 0.25M) al 20%
 - ✓ Folin Ciocalteu con una dilución 1:3 con agua bidestilada
 - ✓ Solución estándar de albúmina
- **Preparación del estándar:** Se usó albúmina 1mg/mL con concentraciones de 0.012 hasta 0.049mg/mL para la curva de calibración.
- **Preparación del liofilizado:** Se procedió según el siguiente esquema mostrado en la **Figura 3**:

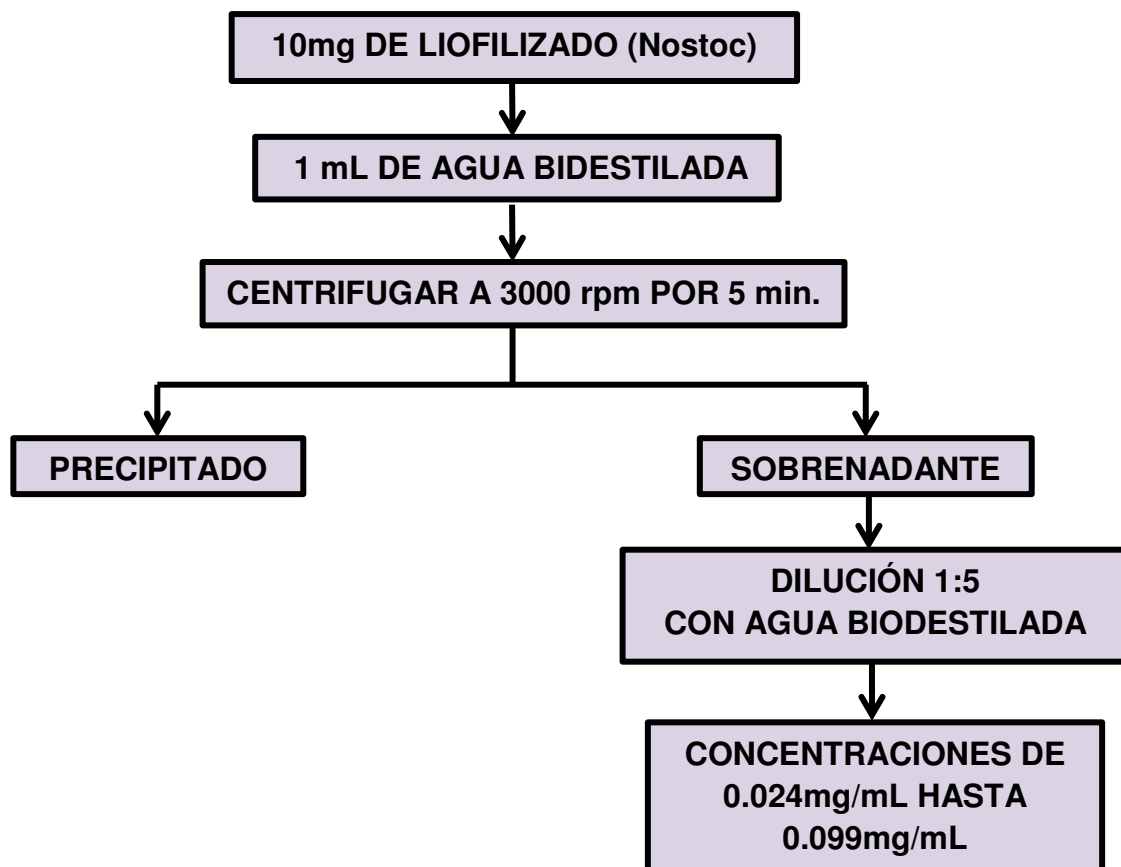


Figura 3: Preparación de la muestra para la determinación de proteínas solubles

- **Batería de reacción:** Se procedió según el siguiente cuadro

	BLANCO (μ L)	ESTANDAR (μ L)	MUESTRA (μ L)
AGUA BIDEDESTILADA	40	--	--
ALBUMINA	--	40	--
MUESTRA	--	--	40
RVO. ALCALINO	400	400	400
MEZCLAR			
RVO. CUPRICO	160	160	160
MEZCLAR Y REPOSAR POR 5 MINUTOS			
FOLIN-CIOCALTEAU (1:3)	300	300	300
MEZCLAR Y REPOSAR POR 30 MINUTOS Y LEER A 700nm			

- **Expresión de resultados:**

Los resultados se calcularon según la siguiente fórmula:

$$\mu\text{g/mL} = \frac{\text{Concentración estándar}}{\text{Absorbancia estándar}} \times \text{Absorbancia muestra} \times Fd$$

Fd = Factor de dilución

El contenido de proteínas solubles de la muestra se expresó en mg/g de *Nostoc* liofilizado y mg/100g de *Nostoc* fresco.

2.10.2 Determinación de Carbohidratos Totales

Fundamento: El ácido sulfúrico hidroliza enlaces glicosídicos para dar monosacáridos que después pueden ser deshidratados dando furfural y sus derivados. Estos productos se combinan con la antrona dando un complejo azul verdoso cuya intensidad depende de la concentración de carbohidratos presentes en la muestra **(36)**.

- **Reactivos y materiales:**

- ✓ Solución de ácido perclórico al 52%
- ✓ Solución de ácido sulfúrico 67%
- ✓ Reactivo Antrona
- ✓ Solución estándar de glucosa
- ✓ Papelfiltro Wathman N°1

- **Preparación del estándar:** Se usó glucosa a una concentración de 1mg/mL y se hizo una dilución de 1:3 con agua bidestilada. Se tomaron concentraciones de 0.0057 hasta 0.029mg/mL para la curva de calibración.

- **Preparación de la muestra:** Se procedió según el siguiente esquema mostrado en la **Figura 4**:

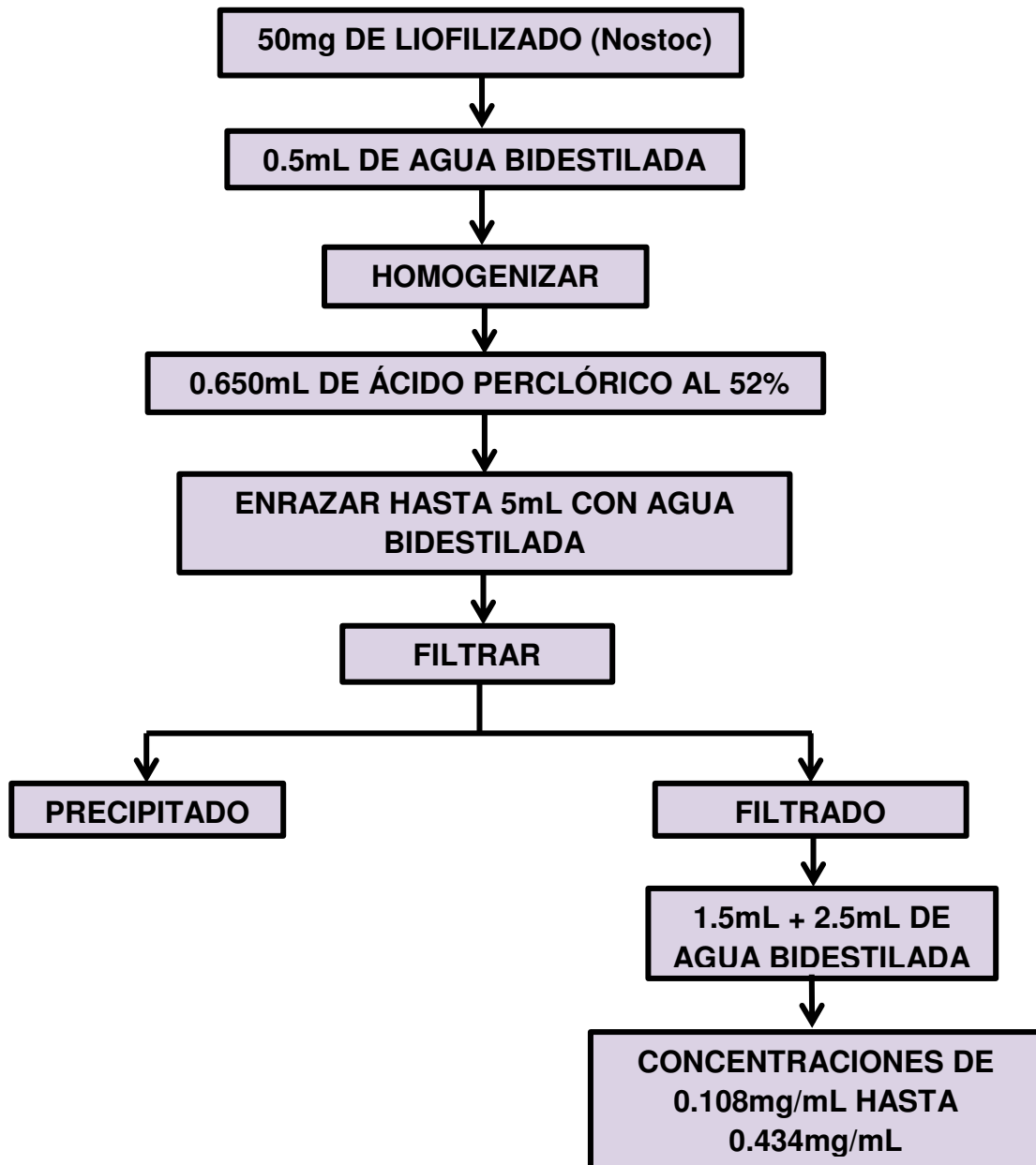


Figura 4: Preparación de la muestra para la determinación de carbohidratos totales

- **Batería de reacción:** Se procedió según el siguiente cuadro

	BLANCO (uL)	ESTANDAR (uL)	MUESTRA (uL)
AGUA BIDESTILADA	200	--	--
GLUCOSA	--	200	--
MUESTRA	--	--	200
ANTRONA CON ACIDO SULFURICO 0.1%	1000	1000	1000
MEZCLAR			
BAÑO DE HIELO POR 5 MINUTOS			
BAÑO MARIA (80°C) POR 10 MINUTOS			
BAÑO DE HIELO POR 5 MINUTOS			
LEER DE A 630nm			

- **Expresión de resultados:**

Los resultados se calcularon según la siguiente fórmula:

$$\mu\text{g/mL} = \frac{\text{Concentración estándar}}{\text{Absorbancia estándar}} \times \text{Absorbancia muestra} \times Fd$$

Fd = Factor de dilución

El contenido de carbohidratos totales de la muestra se expresó en $\mu\text{g/g}$ de *Nostoc* liofilizado y $\mu\text{g}/100\text{g}$ de *Nostoc* fresco.

2.11 Determinación de la actividad antioxidante en el extracto acuoso liofilizado de *Nostoc sphaericum* (Cushuro)

2.11.1 Determinación de vitamina C

- **Fundamento:** El método usado para la determinación de la vitamina C está basado en las propiedades de óxido reducción de

esta vitamina. Se usa el reactivo de Folin Ciocalteau que reacciona con el ácido ascórbico a pH ácido, formándose un complejo de color azul que se lee a 760 nm en un espectrofotómetro.

- **Reactivos:**

- ✓ TCA (ácido tricloroacético) 20%
- ✓ Solución estándar de ácido ascórbico
- ✓ Folin Ciocalteau. (1:10)

- **Preparación del estándar:** Se usó ácido ascórbico a una concentración de 1.76mg/mL y se hizo una dilución de 1:20 con agua bidestilada. De ahí se tomaron concentraciones de 0.41 hasta 1ug/mL para la curva de calibración.
- **Preparación de la muestra:** Se procedió según el siguiente esquema mostrado en la **Figura 5**:

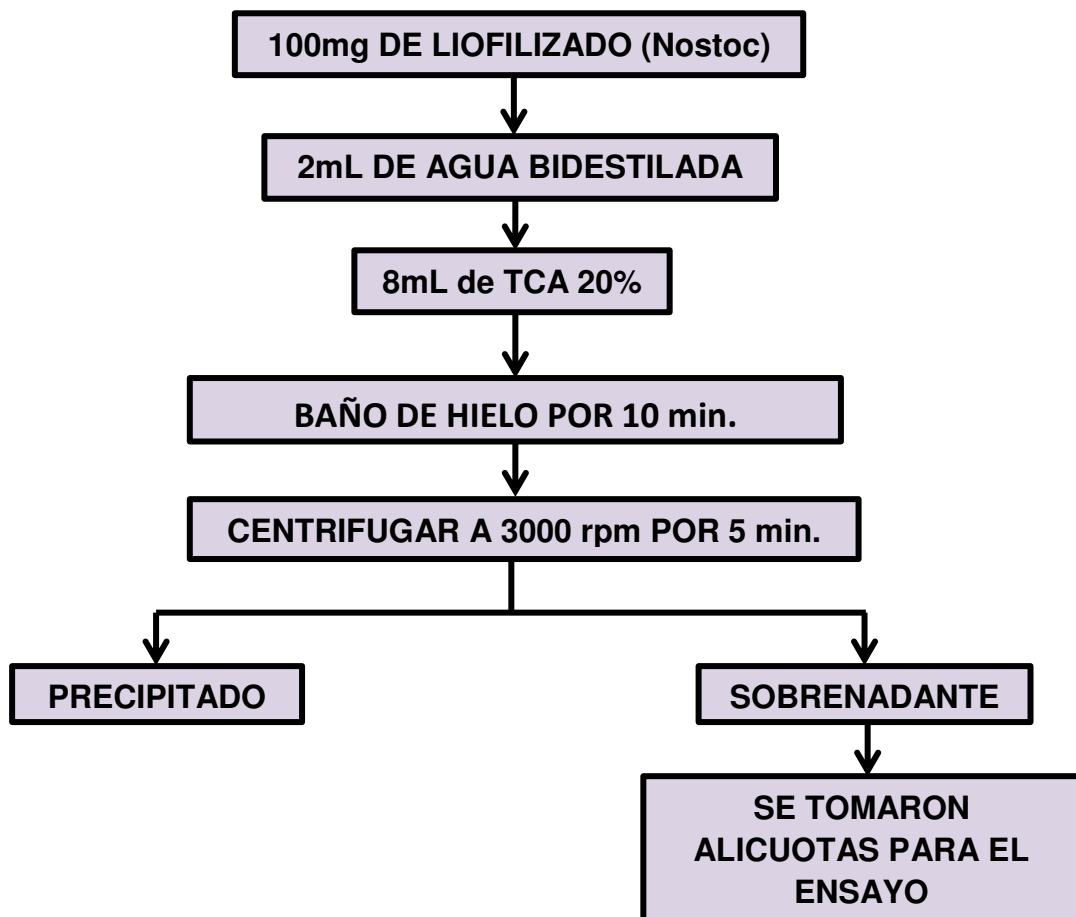


Figura 5: Preparación de la muestra para la determinación de vitamina C

- **Batería de reacción:** Se procedió según el siguiente cuadro

	BLANCO (uL)	ESTANDAR (uL)	MUESTRA (uL)
AGUA BIDEESTILADA	2000	1800	1800
A. ASCORBICO	--	200	--
MUESTRA	--	--	200
FOLIN CIOCALTEAU (1:10)	200	200	200
MEZCLAR Y REPOSAR POR 10 MIN DESPUES LEER A 760nm			

- **Expresión de resultados:**

Los resultados se calcularon según la siguiente fórmula:

$$\mu\text{g/mL} = \frac{\text{Concentración estándar}}{\text{Absorbancia estándar}} \times \text{Absorbancia muestra} \times Fd$$

Fd = Factor de dilución

El contenido de vitamina C en la muestra se expresó en $\mu\text{g/g}$ de *Nostoc* liofilizado y $\mu\text{g}/100\text{g}$ de *Nostoc* fresco.

2.11.2 Determinación de Fenoles Totales

- **Fundamento:** Se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico. La transferencia de electrones a pH básico reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso siendo proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula (37).
- **Reactivos:**
 - ✓ Reactivo Alcalino (Na_2CO_3 1M/ NaOH 0.25M) al 20%
 - ✓ Folin Ciocalteau con una dilución 1:3 con agua bidestilada
 - ✓ Solución estándar de ácido gálico

- **Preparación del estándar:** Se usó ácido gálico a una concentración de 50ug/mL y se tomaron concentraciones de 0.0012 hasta 0.0061mg/mL para la curva de calibración.
- **Preparación de la muestra:** Se procedió según el siguiente esquema mostrado en la **Figura 6**:

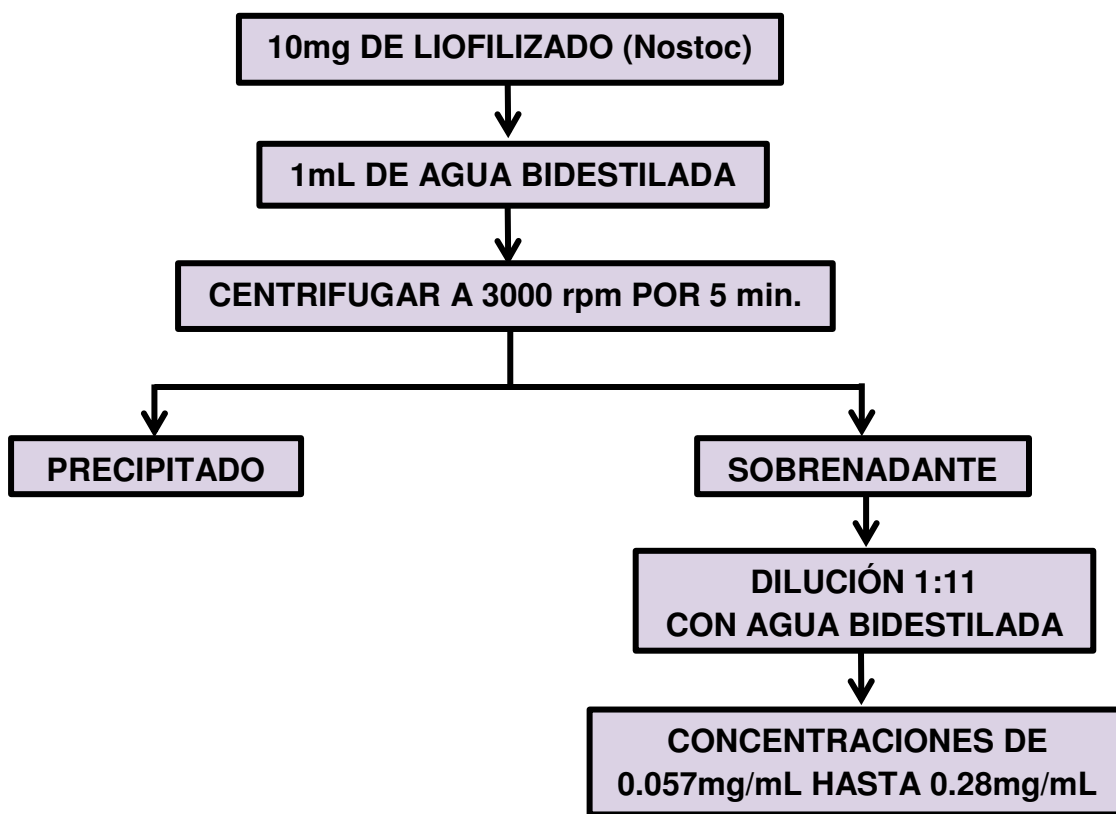


Figura 6: Preparación de la muestra para la determinación de fenoles totales

- **Batería de reacción:** Se procederá según el siguiente cuadro

	BLANCO (uL)	ESTANDAR (uL)	MUESTRA (uL)
AGUA BIDESTILADA	300	200	200
ACIDO GALICO	--	100	--
MUESTRA	--	--	100
FOLIN CIOCALTEAU (1:3)	300	300	300
Na ₂ CO ₃ 20%	300	300	300
MEZCLAR Y REPOSAR POR 30 MINUTOS Y LEER A 760nm			

- **Expresión de resultados:**

Los resultados se calcularon según la siguiente fórmula:

$$\mu\text{g/mL} = \frac{\text{Concentración estándar}}{\text{Absorbancia estándar}} \times \text{Absorbancia muestra} \times Fd$$

Fd = Factor de dilución

El contenido de fenoles totales de la muestra se expresó en mg EAG/g de *Nostoc* liofilizado y mg EAG/100g de *Nostoc* fresco.

EAG: Equivalente a ácido gálico

2.11.3 Determinación de la actividad antioxidante por el ensayo captación de ABTS^{•+} (2,2 -azino-bis (-6-sulfónico 3-etilbenzotiazolina ácido))

- **Fundamento:** Esta técnica se basa en el principio de la formación del radical catión que se genera por una reacción de oxidación del

ABTS^{•+} (2,2 -azino-bis (-6-sulfónico 3-etilbenzotiazolina ácido)) con persulfato de potasio. Este radical presenta una coloración verde azulada que se mide a 734nm. La presencia de un antioxidante en la mezcla produce una supresión de la formación del radical y por ende de la coloración, siendo la misma proporcional a la actividad antioxidante (21).

- **Reactivos:**

- ✓ ABTS^{•+} (2,2 -azino-bis (-6-sulfónico 3-etilbenzotiazolina ácido)). Se prepara una solución de ABTS 7mM y persulfato de potasio 2.45 mM (catalizador). Dejar 16 horas a temperatura ambiente y oscuridad. Hacer una dilución para obtener una absorbancia de 0.700 a 734nm, cada vez que se use.
- ✓ Solución estándar de Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico)

- **Preparación del estándar:** Se usó TROLOX a diferentes concentraciones desde 1.25 hasta 4.5ug/mL y se tomó 50uL de cada una de las concentraciones para la curva de calibración.
- **Preparación de la muestra:** Se procedió según el siguiente esquema mostrado en la **Figura 7**:

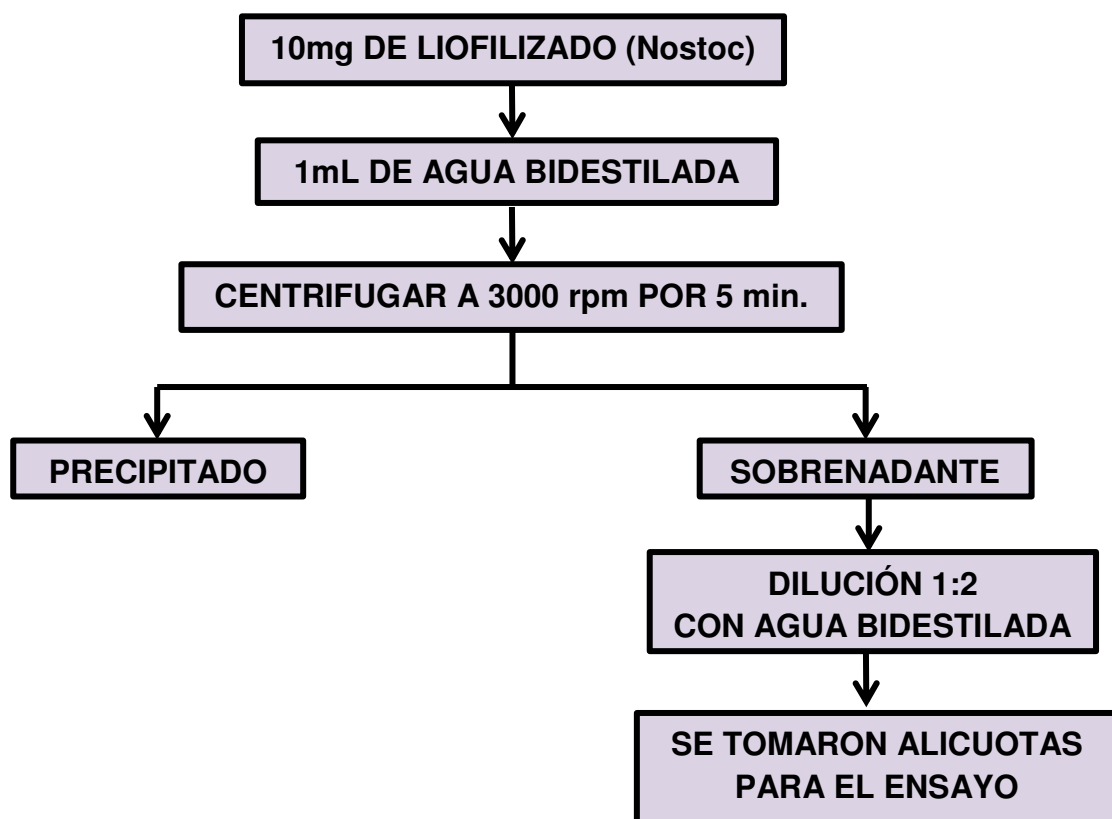


Figura 7: Preparación de la muestra para la determinación de la actividad antioxidante mediante ABTS^{•+}

- **Batería de reacción:** Se precedió según el siguiente cuadro

	BLANCO (uL)	ESTANDAR (uL)	MUESTRA (uL)
AGUA BIDEDESTILADA	50	--	--
TROLOX	--	50	--
MUESTRA	--	--	50
ABTS	950	950	950
LEER DESPUES DE 7 min a 734nm			

- **Expresión de resultados:**

El efecto antioxidante sobre el ABTS^{•+} se calculó como porcentaje de inhibición según la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{absorbancia (control)} - \text{absorbancia (muestra)}}{\text{Absorbancia (control)}}$$

Se usó como estándar de referencia, el antioxidante sintético (trolox) y se graficó el porcentaje de inhibición versus la concentración de trolox. Se obtuvo una recta y con la ecuación resultante se calculó la concentración de antioxidante (ug/mL) necesario para reducir en 50% la absorbancia inicial de ABTS, a esto se le denominó CI50.

Un menor valor de CI50 indica una mayor actividad antioxidante, ya que para disminuir un 50% la absorbancia del ABTS^{•+} se requiere menos cantidad de estándar.

Para la muestra *Nostoc sphaericum* los resultados serán expresados como TEAC (capacidad antioxidante equivalente a trolox) – ABTS en ugEq. trolox/ mg extracto muestra seca o mg Eq. Trolox/ mL extracto.

3. RESULTADOS

3.1 Identificación Botánica del *Nostoc sphaericum* (Cushuro)

Los resultados de la identificación botánica se presentan en el **ANEXO 1**.

3.2 Análisis Proximal del *Nostoc sphaericum* (Cushuro) fresco

El resultado del análisis proximal se presenta en el **ANEXO 2**.

3.3 Rendimiento del extracto acuoso liofilizado de *Nostoc sphaericum* (Cushuro)

El porcentaje de rendimiento del extracto acuoso liofilizado fue de 0.074%

3.4 Barrido espectral del extracto acuoso liofilizado de *Nostoc sphaericum* (Cushuro)

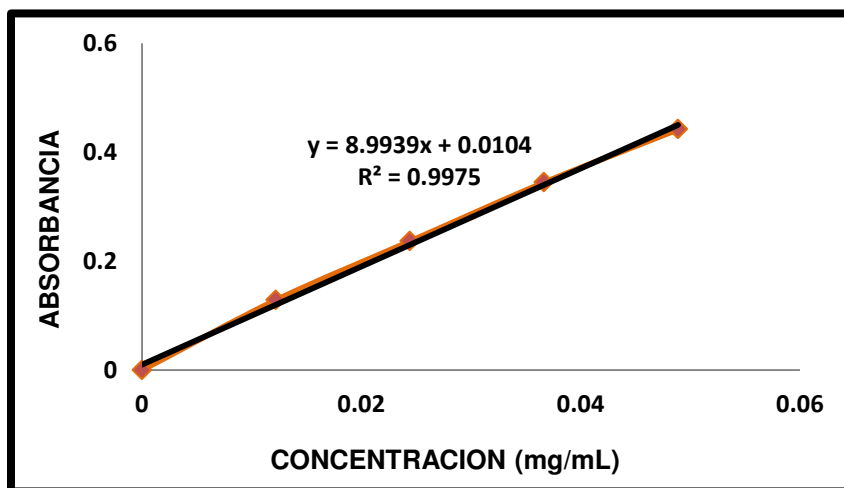
El registro del barrido espectral se muestra en el **ANEXO 3** donde se observa un pico con una absorción máxima de 0.355 a una longitud de onda de 335nm. La literatura reporta que dentro del grupo de los polifenoles, los flavonoides (flavonas y flavonoles) presentarían una banda entre 320 y 370 nm, rango en que está comprendido el valor de máxima absorción de nuestro extracto de *N. sphaericum*.

3.5 Determinación de la composición química del extracto acuoso liofilizado de *Nostoc sphaericum* (Cushuro)

3.5.1 Proteínas solubles

En el **Gráfico 3** se observa una linealidad respecto a las concentraciones utilizadas de estándar (albúmina) con un $R^2=0.9975$.

Gráfico 3: Curva de calibración para la determinación de proteínas solubles usando como estándar albúmina

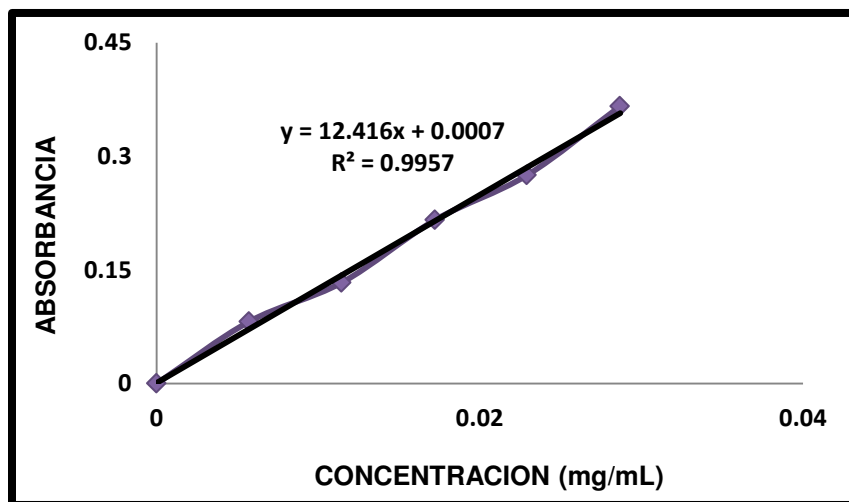


El contenido de proteínas solubles en el liofilizado fue de 15.1mg/g de *Nostoc* liofilizado ó 1.12mg/100g de *Nostoc* fresco.

3.5.2 Carbohidratos Totales

En la **Gráfico 4** se observa una linealidad respecto a las concentraciones utilizadas de estándar (glucosa) con un $R^2=0.9957$.

Gráfico 4: Curva de calibración para la determinación de carbohidratos totales usando como estándar glucosa



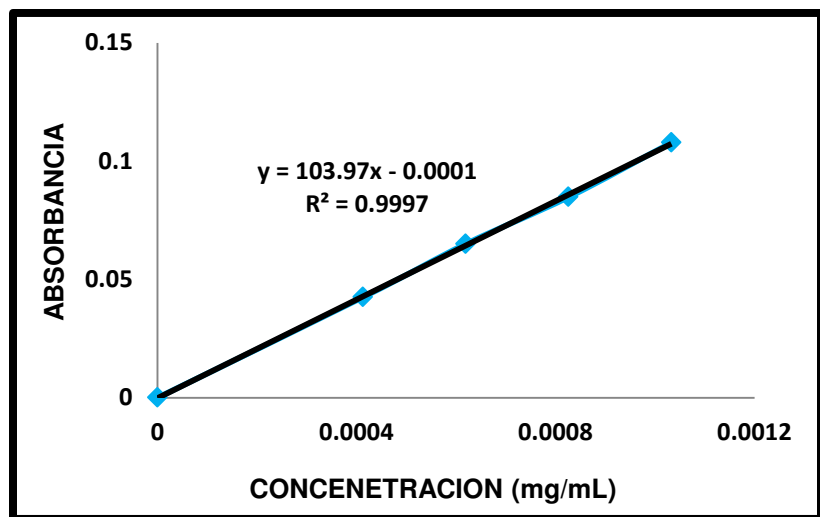
El contenido de carbohidratos totales en el liofilizado fue de 949ug/g de *Nostoc* liofilizado ó 70.63ug/100g de *Nostoc* fresco.

3.6 Determinación de la actividad antioxidante del extracto acuoso liofilizado de *Nostoc sphaericum* (Cushuro)

3.6.1 Vitamina C

En la **Gráfico 5** se observa una linealidad respecto a las concentraciones utilizadas de estándar (ácido ascórbico) con un $R^2=0.9997$.

Gráfico 5: Curva de calibración para la determinación de vitamina C usando como estándar ácido ascórbico

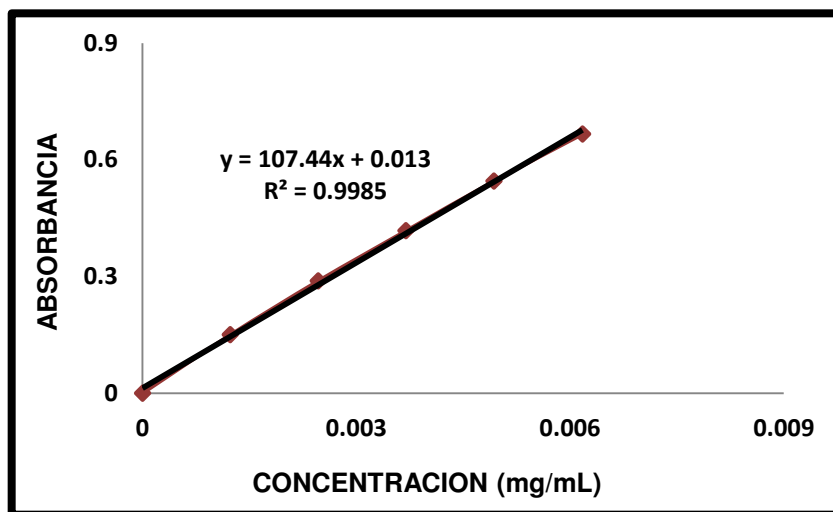


El contenido de vitamina C en el liofilizado fue de 28.06ug/g de *Nostoc* liofilizado ó 5.43ug/100g muestra fresca. Según las concentraciones empleadas en el presente estudio.

3.6.2 Fenoles totales

En la **Gráfico 6** se observa una linealidad respecto a las concentraciones utilizadas de estándar (ácido gálico) con un $R^2=0.9985$.

Gráfico 6: Curva de calibración para la determinación de fenoles totales usando como estándar Ácido Gálico



El contenido de fenoles totales fue de 2.98mg EAG/g de *Nostoc* liofilizado ó 0.22mg EAG/100g de *Nostoc* fresco.

3.6.3 Actividad antioxidante por el ensayo de captación de ABTS^{•+} (2,2-azino-bis(-6-sulfónico 3-etilbenzotiazolina ácido))

En la **Gráfico 7** se observa linealidad de la absorbancia versus la concentración de trolox con un $R^2 = 0.9965$. Luego se calculó el porcentaje de inhibición que se graficó versus la concentración del estándar (**Gráfico 8**).

Reemplazando los datos en la ecuación de la recta ($y = -0.1102x + 0.6672$) del gráfico 7, nos permitió calcular el CI50 para el trolox.

Del mismo modo se procedió para calcular el CI50 para la muestra, graficando el % de inhibición del ABTS^{•+} a diferentes concentraciones del extracto de Nostoc.

Gráfico 7: Curva de calibración usando como estándar Trolox mediante la prueba de ABTS^{•+}

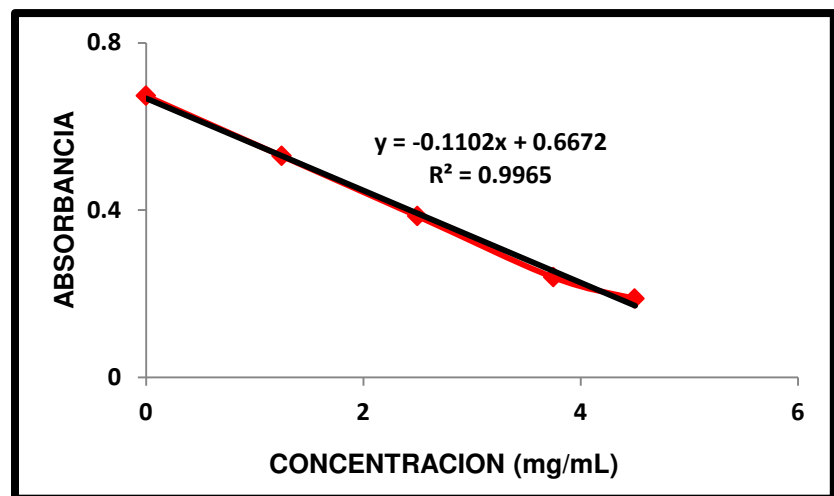
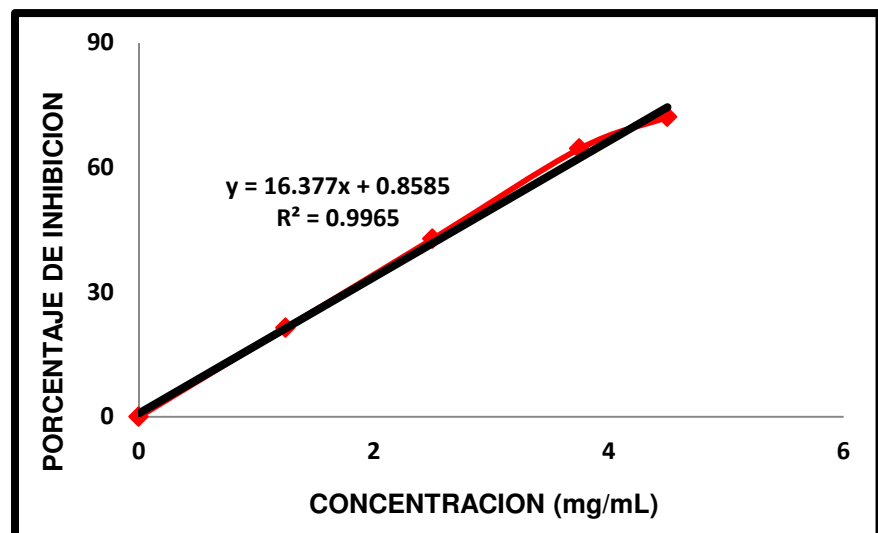


Gráfico 8: Curva de porcentaje de inhibición para Trolox



Según nuestros cálculos el valor del CI50 para el estándar fue 3.03ug/mL y el CI50 de la muestra estuvo entre 10 - 15 ug/mL. Así también se calculó el porcentaje de inhibición de la muestra que fue 52% a una concentración de 0.15mg/mL y el TEAC – ABTS fue 0.384 ug Eq. Trolox/ mg extracto de muestra seca o 1.164 ug Eq. Trolox/ mL extracto

4. DISCUSIÓN

Teniendo en consideración la búsqueda de nuevas fuentes alimentarias y materias primas no convencionales se realizó el presente estudio con *Nostoc sphaericum* (Cushuro), debido a que desde tiempos antiguos en la zona altoandina **(38)**. En el contexto de la posible utilización del Cushuro como alimento funcional, se hace necesario estudiar diversos aspectos de este.

Empezamos nuestro estudio realizando el análisis proximal del *N. sphaericum* y como resultado en base seca se obtuvo 1.1% de humedad, 32.36% de proteínas y 15.85% de ceniza; lo cual resultó diferente a lo obtenido por Aldave A., quien menciona que el *N. commune*, una especie similar, tiene un 3.02% de humedad y 7.3% de cenizas pero es similar a nuestra muestra en cuanto al contenido de proteínas 30% **(18)**. Sin embargo, para la Spirulina, especie de la misma división taxonómica, Ponce E. y col. **(39)** reporta un porcentaje de proteínas de casi el doble (65%).

Por otro lado Vidal A. y col. **(27)** realizaron un estudio en algas rojas (*Bryothamnion triquetrum*) e indican que la cantidad de proteínas en base seca es de 9.5%, parecido al reportado por Frikha F. y col. **(28)** quienes trabajan con algas verdes, donde obtuvieron 7.31% de proteínas para la *Ulva rigida* y 5.03% para el *Codium bursa*, en base seca para ambos casos.

Estos valores son menores a los encontrados en el presente estudio, corroborando así, que el contenido de proteínas varía según el tipo de alga y su hábitat.

La mayoría de los estudios realizados en algas trabajan con muestras frescas o secas, otros utilizan diferentes solventes orgánicos como hexano, metanol, soluciones hidroalcohólicas, entre otros. En nuestro caso, se preparó un extracto acuoso de *N. sphaericum* que luego se liofilizó y obtuvimos un rendimiento de 0.074% diferente al reportado por Echevarria B. y col. que estudiaron macroalgas del Caribe colombiano donde el mayor rendimiento obtenido fue de 7.94% para la *Caulerpa mexicana* donde trabajaron con extractos hidroalcohólicos **(29)**.

En un estudio semejante al nuestro donde estudiaron un extracto acuoso liofilizado de *Bryothamnion triquetrum*, alga roja colectado en el mar del Caribe frente a Cuba, obtuvieron un rendimiento final de 0.5% (40); así también Siow T. y col. refieren que el rendimiento del extracto metanólico del alga marina *Padina sp.* de la Península de Malasia obtenido por un método convencional fue de 1.21% menor al extracto de *E. cottonii* obtenido por el método soxhlet en el mismo estudio (41).

Una de las probables explicaciones a esta diferencia de resultados en el rendimiento porcentual obtenido, podría deberse al método usado en la obtención y preparación de los extractos acuosos, ya que el extracto del *N. sphaericum* fue acuoso y luego se liofilizó, mientras que el de las macroalgas del Caribe colombiano fue extracto metanol/ cloroformo que luego se dejó en maceración por varios días y se concentró por desecación a 40°C. Siow T. y col. (41) usaron dos métodos de extracción de muestra (soxhlet y convencional) y encuentran que el primer método aumenta en un 50% el rendimiento del extracto.

Otra explicación del bajo rendimiento obtenido en nuestro estudio frente a lo reportado por otros autores podría ser la especie taxonómica utilizada, ya que el porcentaje de humedad del *N. sphaericum* fue de 98.9% en base húmeda y de las demás especies fue baja. Debemos también mencionar que en una prueba piloto, realizada un año anterior, con esta cianobacteria se obtuvo 0.1% de rendimiento, superior al encontrado ahora.

Para evaluar la composición química y actividad antioxidante *in vitro* preparamos un extracto acuoso de cushuro, ya que este es el medio que usan los pobladores altoandinos cuando lo consumen en sopas, guisos, etc y lo liofilizamos para asegurar una mejor conservación y almacenamiento durante el tiempo que duró el estudio. Es así que los siguientes resultados que presentamos a continuación fueron en base al extracto acuoso liofilizado del *N. sphaericum*.

Respecto al estudio de la composición química del extracto acuoso liofilizado se pudo hallar que la cantidad de proteína soluble fue de 15.1mg/g de *Nostoc* liofilizado parecido (19.87mg/mL) al reportado por Valdés – Iglesias O. y col. (42) en un extracto acuoso liofilizado de una Chlorophyta (*Cladophoropsis membranacea*) mencionaron también que la cantidad de proteínas en algas verdes es mayor frente a las algas pardas y algas rojas.

Otro componente que también se determinó fueron los carbohidratos totales presentes en el extracto correspondiendo a 949ug/g de *Nostoc* liofilizado. Si bien nuestro objetivo no fue caracterizar el tipo de azúcar, Aldave A. menciona la presencia de galactosa, xilosa, fructosa, ramnosa, sucrosa y glucosa además de polioles como manitol, heptitol, sorbitol y glicerol en muestras de *N. commune* (18).

Las plantas, algas y algunos animales sintetizan la Vitamina C, de gran importancia para los organismos ya que una de sus funciones es el de ser un potente antioxidante hidrosoluble y en el caso de los humanos es indispensable el consumo en su dieta (43). Por tal motivo resulta de interés su cuantificación en diversos recursos vegetales y alimentos.

Hay diferentes métodos para la determinación de la vitamina C, uno de ellos es el de la titulación con 2,6-diclorofenolindofenol recomendado por la AOAC que aplicado para el extracto acuoso liofilizado de *N. sphaericum* no se obtuvo buenos resultados. Una limitante para nuestro estudio fue la baja cantidad de liofilizado obtenido (en el rango de mg). Otros factores que también pudieron influir serían la labilidad de la vitamina en el extracto liofilizado y conservado a 2°C, el tiempo de almacenamiento, la posible presencia de sustancias reductoras como sales ferrosas, sulfitos la estabilidad del indicador (2,6-diclorofenolindofenol), entre otros.

El otro método, que finalmente aplicamos a la muestra, fue el señalado en la metodología que se basa en el poder reductor de la vitamina C con el cual llegamos a determinar que la cantidad de vitamina C fue de 28.06ug/g de muestra liofilizada, siendo este valor menor al reportado por Vidal A. y col. (27) quienes trabajaron con extractos acuosos liofilizados de algas marinas rojas encontrando 0.04+/-0.005mg/g extracto liofilizado de vitamina C, usando la metodología espectrofotométrica propuesta por Netelson, que utiliza el reactivo de 2,4-dinitrifetilhidracina-tiourea.

En algunas especies de algas marinas se ha comprobado que la actividad antioxidante se encuentra en función de este compuesto (vitamina C) o también actuando como potenciador de la actividad antioxidante de otros metabolitos secundarios como los compuestos fenólicos (27).

Como parte de los productos, las algas y algunas microalgas, representan una importante fuente de principios activos de gran valor y biodiversidad que deben ser investigados para el desarrollo de nuevos productos y aplicaciones **(39)** en la industria alimentaria y farmacéutica. En diversos trabajos de investigación se ha demostrado que los radicales tienen una estrecha relación con enfermedades crónicas y envejecimiento en el ser humano y se ha descrito también el efecto beneficioso que podrían tener algunos fenoles y vitaminas presentes en los alimentos **(3, 27, 44)**.

En la presente investigación se evaluó el contenido de fenoles ya que ha sido descrito que las algas presentan un importante contenido de estos compuestos químicos y se presupone que su presencia es necesaria debido al ambiente “hostil” en que se desarrollan estos organismos. En el caso del *N. sphaericum* ya hemos señalado que viven en elevadas alturas y están expuestos a una combinación de luz (radiación UV) y oxígeno que generan radicales libres. Sin embargo la usencia de daño oxidativo en los componentes estructurales de estas especies y su estabilidad frente a la oxidación durante el almacenamiento, sugiere que sus células deben tener antioxidantes **(45)**.

Los fenoles son un amplio grupo de sustancias, consideradas como metabolitos secundarios, con diferente estructura química y actividad que comprende más de 8000 compuestos. Actualmente su estudio ha despertado gran interés debido a sus propiedades antioxidantes y los posibles beneficios para el tratamiento de diversas enfermedades donde se produce un desbalance entre el estado oxidante y antioxidante a favor de los primeros **(37)**.

En nuestro estudio, la cantidad de fenoles totales que encontramos en el *N. sphaericum* fue de 2.98mg EAG/g muestra liofilizada, que es mayor a la encontrada en una investigación donde estudiaron extractos metanólicos de macroalgas del Caribe colombiano en cuyo caso fue de 0.822mg EAG/g de extracto **(29)**. Así también Karthikai G. y col mostraron para *Turbinaria conoides* un contenido de fenoles totales de 1.231mg EAG/g de extracto metanólico **(46)**. Esta diferencia en los resultados pueden explicarse por varios factores: los diferentes tipos de extractos utilizados, especies estudiadas, hábitat, estación del año en el que se recolectó la muestra, entre otros.

En el caso del tipo de extracción utilizado, los resultados obtenidos no varían mucho según Siow T. y col, quienes refieren que el contenido total de compuestos fenólicos para *Padina Sp.* en una extracción convencional y soxhlet eran 14.58mg EAG/g y 15.28mg EAG/g respectivamente y para *E. cottonii* eran 8.71mg EAG/g y 9.04mg EAG/g respectivamente para cada método de extracción **(41)**. Otros valores similares al primero (16.375mg EAG/g de extracto) lo reporta Parthibn C. y col. para el extracto con acetona del alga parda *Dictyoma dichotom* **(47)**. Estos valores resultan superiores a los encontrados en el extracto de *N. sphaericum*.

Habiendo determinado la presencia de compuestos con propiedades antioxidantes tales como la vitamina C y fenoles totales, evaluamos la actividad antioxidante *in vitro* del extracto acuoso liofilizado del *N. sphaericum*. Además, referencias en la literatura determinan una alta correlación entre el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante en diversas frutas.

Para abordar dicho parámetro, existen diferentes métodos que se basan en comprobar como un agente oxidante es inhibido o reducido en presencia de un antioxidante contenido en el extracto de la muestra. Un método muy usado es el que emplea el radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) con el cual no tuvimos buenos resultados ya que al disolver la muestra en diferentes solventes orgánicos (hexano, metanol y etanol) a diferentes proporciones con agua, los resultados no fueron reproducibles, debido a que no se logró la solubilidad total de la muestra, Montoya G. y col. mencionan que la débil capacidad de la muestra, para decolorar el radical DPPH puede ser por la presencia de compuestos con polaridad media alta como son los polifenoles **(48)** ya que dicho radical (DPPH) reacciona mejor en solventes orgánicos y con compuestos de menor polaridad **(30)**.

El otro método que ensayamos es el de ABTS⁺, debido a que este radical es afin con los antioxidantes hidrofílicos, como es el caso de un amplio grupo de polifenoles. En el trabajo realizado por Indu H. y col. reportan para la especie *C. linum* un porcentaje de inhibición alrededor del 20% a una concentración de 20ug/mL de extracto etanólico del alga **(49)**, así también, Chakraborty K. y col reportan para *Turbinaria sp.* a una concentración de 0.6mg/mL de extracto n-hexanico un porcentaje de inhibición de 30.84% **(50)** en nuestro caso obtuvimos un porcentaje de inhibición mayor (52%) con una menor concentración (0.15mg/mL) de (*Nostoc*

sp.), lo que evidencia un alto potencial antioxidante del *Nostoc sp.* frente a las especies mencionadas.

El CI50, es otro parámetro que nos permite comparar la capacidad antioxidante de extractos de diversos recursos vegetales. Boonchum W. y col. (51) refieren que para el extracto acuoso liofilizado del alga *Halimeda macroloba* el CI50 obtenido fue de 14.397mg/mL este valor resulta semejante al CI50 obtenido en nuestro estudio (10-15mg/mL).

Ramos A. y col. (52) reportan criterios de selección para extractos vegetales en base al IC50, considerando de alto potencial antioxidante aquellos con valores menores a 30 ug/mL, con moderado potencial, los ubicados en un rango entre 30 ug/mL y 100 ug/mL y de bajo potencial, aquellos con IC50 por encima de 100 ug/mL. Si tomamos en cuenta el CI50 del *Nostoc* que determinamos (10-15 ug/mL) nuestro extracto presentaría un alto potencial antioxidante. Así mismo, para realizar comparaciones del porcentaje de captación de radicales libres es necesario unificar unidades, usándose el trolox en muchos protocolos., así tenemos valores de TEAC-ABTS, TEAC-DPPH y otros.

La capacidad antioxidante en equivalente Trolox (TEAC) de un extracto representa la concentración de una solución de trolox que tiene la misma capacidad captadora de radicales libres que el extracto. En el presente estudio, el TEAC-ABTS calculado para el *Nostoc* fue de 0.384 ugEq Trolox/ mg extracto de muestra seca o 1.164 ug Eq Trolox/ mL extracto, lo cual también evidencia un alto potencial antioxidante.

Podemos concluir por los resultados obtenidos en el presente estudio que el *N. sphaericum* presenta una alta actividad antioxidante la cual podría deberse a los diferentes componentes presentes en el extracto acuoso pero principalmente a la diversidad de los compuestos fenólicos entre ellos a los flavonoides.

Finalmente, consideramos que es necesario continuar con la línea de investigación en estas cianobacterias debido a la posibilidad de obtener compuestos bioactivos nuevos que pueden contribuir a mejorar nuestra salud y alimentación. El *Nostoc sp.* podría ser fuente de un antioxidante natural con un futuro promisorio, por lo que se deberían ensayar otras pruebas que valoren dicho potencial.

5. CONCLUSIONES

En base a los ensayos realizados en el extracto acuoso liofilizado de *Nostoc sphaericum* podemos concluir lo siguiente:

- El análisis proximal en base seca del *Nostoc sphaericum* presentó un alto porcentaje de proteínas cuyo valor fue de 32.36% y en el extracto acuoso liofilizado la proteína soluble fue de 15.1 mg/g de muestra. Los carbohidratos totales fueron de 949 ug/g.
- El contenido de fenoles totales correspondió a un valor de 2.98 mg EAG/ g de muestra liofilizado que se encuentra dentro de los valores reportados para las algas. La vitamina C fue de 0.073 mg/g de extracto liofilizado.
- La muestra presenta una alta actividad antioxidante comparado con otras especies de algas marinas con valores de 52% de inhibición del radical ABTS^{•+} a una concentración de 0.15 mg/mL, un IC50 entre 10-15 ug/mL de extracto, un TEAC-ABTS igual a 0.384 ugEq Trolox/ mg extracto de muestra seca. Esta actividad se debería al contenido de fenoles totales presentes en el *Nostoc sphaericum* ya que el contenido de vitamina C fue bajo.

6. RECOMENDACIONES

- Se recomienda hacer muestras seriadas en diferentes fechas para determinar la variabilidad en el porcentaje de rendimiento del extracto de *Nostoc sphaericum* con respecto a la muestra fresca.
- Preparar extractos de *Nostoc sphaericum* con otros solventes orgánicos como el metanol, etanol u otras soluciones hidroalcohólicas y evaluar su potencial antioxidante.
- Medir la actividad antioxidante mediante pruebas *in vitro* o *in vivo* para confirmar su potencial frente a antioxidantes sintéticos.
- Aislar los compuestos biactivos responsables de su actividad antioxidante.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Maldonado O., Jimenez E., Barnabé M., Ceballos G., Méndez E. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico – degenerativas. Rev. Med. 2010; 10(2): 32-39.
2. Avello M., Suwalsky M, Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. Atenea (Concepc). 2006; 10(4): 161-172.
3. Rodríguez J., Menéndez J. y Trujillo Y. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. Rev Cubana Med Milit. 2001; 30(1): 36-44.
4. Boveris A. La evolución del concepto de radicales libres en biología y medicina. Ars. Pharm. 2005; 46(1): 85-95.
5. Mayo R. Estrés oxidativo y sistema de defensa antioxidante. R. Rev. Inst. Med. Trop. 2010; 5(2): 23-29.
6. Verneo J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Rev. Cuabana Med Milit 2002; 31(2): 126 – 133.
7. Child R., Wilkinson D. Fallowfield J., Donnelly A. Elevated serum antioxidant capacity and plasma malondialdehyde concentration in response to a simulated half- marathon run. Med Sci Sport Exerc. 1998; 30(11):1603-7.
8. Halliwell B, Gutteridge JMC. Biologically relevant metal ion dependent hydroxyl radical generation. An update, FEBS let. 1992; 307:108-12.

9. Ramos E., Castañeda B., Ibañez L. Evolución de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e intruducidas. Rev. Acad. Perú Salud. 2008; 15(1): 42-46.
10. Mosquera O., Niño J., Correa Y., Buitrago D. Estandarización del método de captura de radicales libres para la evaluación de la actividad antioxidante de extractos vegetales. Ciencia Et Technica. 2005; 11(27): 231-234.
11. Avello M., Valladares R., Ordoñez J. Capacidad antioxidante de *Aristotelia chilensis* (Molina) Stunz. Rev. Cubana Plant Med. 2008; 13(4).
12. Velazquez M., Prieto B., Contreras R. El envejecimiento y los radicales libres. Ciencias. 2004; 75(43): 36-43.
13. Troncoso L., Guija E. Efecto antioxidante y hepatoprotector del *Petroselinum sativum* (perejil) en ratas, con intoxicación hepática inducida por paracetamol. An. Fac. Med. 2007; 68(4): 333-343.
14. Sotero V., Silva L., Garcia D., Iman S. Evaluación de la actividad antioxidante de la pulpa, cáscara y semilla del fruto del camu camu (*Myrciaria dubia* H.B.K.). Rev. Soc. Quím. 2009; 75(3): 293-299.
15. Guerra E. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. An. Med. Interna (Madrid). 2001; 18(6): 50-59.
16. García P. y Aceves C. Estudio de factores nutricionales asociados a la prevención de cáncer mamario. Importancia de los modelos animales. ALAN. 2005; 55 (3).
17. Sun M., Yun J., Hwan W. y Sun S. Effects of seaweed supplementation on blood glucose concentration, lipid profile, and antioxidant enzyme activities in patients with type 2 diabetes mellitus. Nutr. Res. Pract. 2008; 2(2): 62-67.
18. Aldave A. Algas y alimentación humana. Algas. 1^{ra} Edición. Trujillo-Perú: Libertad; 1989. p. 13 – 79.

19. Llanos E. Capacidad antioxidante de tres variedades de papa (*Solanum tuberosum*) con y sin cáscara: blanca, amarilla y rosada. Tesis de Licenciatura. Lima: U.N.M.S.M. Facultad de Medicina; 2009.
20. Muedas G., La Rosa Toro A., Robles J. Evaluación electroquímica de la actividad antioxidante del extracto alcohólico de *la Bauhinia guianensis var. kuntiana Aubl.* Rev Soc Quím Perú. 2008; 74 (4).
21. Gutiérrez A., Ledesma L., García I., Grajales O. Capacidad antioxidante total en alimentos convencionales y regionales de Chiapas, México. Rev Cubana Salud Pública. 2007; 33 (1).
22. Gutiérrez D., Ortiz C. Mendoza A. Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. En: Simposio de Metrología. México: Universidad Autónoma de Querétaro; 2008.
23. Dimas A., Cássia B., Zaia J. Determinación de proteínas totales vía espectrofotómetro: ventajas y desventajas de métodos existentes. Química nova. 1998; 21 (6).
24. Yemm E., Willis A. The Estimation of Carbohydrates in Plant Extracts by Anthrone. Department of Botany, University of Bristol. 1954; 514 (57): 508 – 514.
25. García T., Hernández R. Valdés O., Menéndez R. Las algas marinas: fuente de nutrición y salud. 2010; 19.
26. Perez D., Soraci A. Cianobacterias y cianotoxinas: rol de las microcistinas en la salud humana y animal y su detección en muestras de agua. Analecta veterinaria 2008; 28 (1): 48 – 56.
27. Vidal A., Fallarero A., Silva E., Oliveira A., et al. Composición química y actividad antioxidante del alga marina roja *Bryothanion triquetrum* (S. G. Gmelin) Howe. Rev. Bras. Cienc. Farm. 2006; 42(4): 589-600.

28. Frikha F., Kammoun M., Hammammi N., Mehirgui N., Belbahri L., Gargouri Y., Miled N. Composición química y algunas actividades biológicas de algas marinas recolectadas en Túnez. *Ciencias Marinas*. 2011; 37(2): 113-124.
29. Echevarría B., Francos A., Martínez A. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de compuestos fenólicos en extractos de macroalgas del Caribe Colombiano. *Vitae*. 2009; 15(1): 126-131.
30. Dos Santos M., Horta P., Fett R. Actividad antioxidante in vitro de extractos de algunas algas verdes (*Chlorophyta*) del litoral de la costa de Brasil. *Rev. Bras. Cienc. Farm.* 2004; 40(4).
31. Contenido en algunos nutrientes del alga marina comestible, *Monostroma undulatum*, Wittrock de la costa patagónica argentina. En: http://www.alanrevista.org/ediciones/2003-3/nutrientes_alga_marina_comestible.asp
32. Plan de acción mundial frente a las enfermedades no transmisibles encontrado en: http://www.who.int/mediacentre/events/2008/wha61/issues_paper2/es/index.html
33. Velásquez A., Cachay C., Munayco C., et al. La carga de enfermedad y lesiones en el Perú. Informe presentado por el Ministerio de Salud. Perú: MINSA; 2009.
34. Sánchez J. Encuesta Nacional de Indicadores Nutricionales, Bioquímicos, Socioeconómicos y Culturales Relacionados con las Enfermedades Crónicas Degenerativas. Informe presentado por el Instituto Nacional de Salud. Perú. 2006.
35. García H. Vasquez R. Cuantificación de proteínas, una revisión. *Bio Tecnología*. 1998; 1.
36. Dubois M., Gilles K., Hamilton J., Rebers P & Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 1956; 28: 350 – 356.

37. Chuquimia F., Alvarado A., Peñarrieta M., Bergenståhl B., Åkesson B. Determinación de la capacidad antioxidante y la cuantificación de compuestos fenólicos y flavonoidicos de cuatro especies vegetales de la región andina de Bolivia. *Rev. Bol. Quim.* 2008; 25(1): 76-84.
38. Peleato M. Las cianobacterias: cooperación versus competencia. Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas, Químicas y Naturales de Zaragoza. 2011.
39. Ponce E. Superalimento para un mundo en crisis: Spirulina a bajo costo. *Idesia* 2013; 31(1): 135-139.
40. Fallero A. Actividad antioxidante y neuroprotectora in vitro del extracto acuoso del alga *Bryothamnion triquetrum* (Ceramiales, Rhodomelaceae). [Tesis Doctoral]. La Habana: Universidad de La Habana. Facultad de Biología; 2005.
41. Konigsberg M. Radicales libres y estrés oxidativo: aplicaciones médicas. Editorial El Manual Moderno. México. 2008; 279-281.
42. Siow T., Ai L., Kuppusamy P., Yusoff, M., Govindan N. Studies on in-vitro antioxidant activity of marine edible seaweeds from the east coastal region of Peninsular Malaysia using different extraction methods. *Journal of Coastal Life Medicine.* 2013; 1(3): 193-198.
43. Valdés-Iglesias O., Díaz N., Cabranes Y., Acevedo M., Areces A., Graña L., Díaz C. Macroalgas de la plataforma insular cubana como fuente de extractos bioactivos. *Avicennia.* 2003, 16: 36 – 45.
44. Aubad P., Rojano B., Lobo T. Actividad antioxidante en musgos. Universidad Tecnológica de Pereira, 2007.
45. Wang G., Chen K., Chen L., Hu C., Zhang D., Liu Y. The involvement of the antioxidant system in protection of desert cyanobacterium *Nostoc* sp. against UV-B radiation and the effects of exogenous antioxidants. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 2008, 69: 150–157.

46. Karthikai G., Manivannan K., Thirumaran G., Arockiya F., Anantharaman P. *In vitro* antioxidant activities of selected seaweeds from Southeast coast of India. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 2011; 4(3): 205-211.
47. Parthiban C., Saranya C., Girija K., Hemalatha A., Suresh M., Anantharaman P. Evaluation of *in vitro* antioxidant properties of same selected seaweed from Tuticorin coast. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 2013; 2(9): 64-73.
48. Montoya G., Osorio E., Jiménez N., Arango G. Actividad captadora de radicales libres de alcaloides de *Rollinia pittieri* (Annonaceae) por el método del DPPH. Vitae 2004; 11(2).
49. Indu H., Seenivasan R. *In vitro* antioxidant activity of selected seaweeds from southeast coast of India. Int J Pharm Pharm Sci. 2013; 5(2): 474-484.
50. Chakraborty K., Krishnankartha N., Kizekadath K., Gonugontla. Rao S. Evaluation of phenolic contents and antioxidant activities of brown seaweeds belonging to *Turbinaria spp.* (*Phaeophyta*, *Sargassaceae*) collected from Gulf of Mannar. Asian Pac J Trop Biomed. 2013; 3(1): 8-16.
51. Boonchum W., Peerapornpisal Y., Kanjanapothi D., Pekkoh J., Pumas C., Jamjai U., Amornlerdpison D., Noiraksar T., Vacharapiyasophon P. Antioxidant Activity of some Seaweed from the Gulf of Thailand. Int. J. Agric. Biol. 2011, 13(1).
52. Ramos A., Vizoso A., Piloto J., García, A., Rodríguez A., Rivero R. Screening and antimutagenicity via antioxidant activity in Cuban medicinal plants. Journal of ethnopharmacology. (2003); 87: 241-246.

ANEXOS

- ANEXO 1: IDENTIFICACIÓN BOTANICA



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la Integración Nacional y el Reconocimiento de Nuestra Biodiversidad"

CONSTANCIA Nº 44 - USM-2012

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM), DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (alga de agua dulce), recibida de la señorita **VIRGINIA SUELY VIDARTE PORTOCARRERO**, estudiante de Pre grado de la Facultad de Medicina, Escuela Académica de Nutrición de la UNMSM; ha sido estudiada y clasificada como: ***Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet y Flahault** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el ordenamiento sistemático de Guiry, MD & Guiry, GM, 2012 Algae base.

DIVISION: CYANOBACTERIA

CLASE: CIANOPHYCEAE

SUB CLASE: NOSTOCOPHYCIDAE

ORDEN: NOSTOCALES

FAMILIA: NOSTOCACEAE

GENERO: *Nostoc*

ESPECIE: *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahault

Nombre vulgar: **Cushuro- Junín**

Determinado por: Blgo. Mario Julio Benavente Palacios

Se extiende la presente constancia a solicitud de la interesada y para los fines de estudio.

Lima, 11 de abril del 2012




Dra. HAYDEE MONTOYA TERREROS
Jefa
Herbario San Marcos (USM)

U.N.M.S.M. E.A.P. NUTRICIÓN: “Composición química y actividad antioxidante *in vitro* del extracto acuoso de *Nostoc sphaericum* (Cushuro), laguna Cushurococha - Junín”

• **ANEXO 2: ANÁLISIS PROXIMAL**



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE PRODUCCIÓN ANIMAL
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA, NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN ANIMAL
AV. CIRCUNVALACIÓN CDRA. 28-S/N. SAN BORJA - ☎ 4353348 ANEXO 229 ☎ 6197000 ANEXO 5014



“AÑO DE LA INTEGRACIÓN NACIONAL Y EL RECONOCIMIENTO DE NUESTRA DIVERSIDAD”

N° 17919

ANÁLISIS REQUERIDO : PROXIMAL
MUESTRA : ALGA NOSTOC CONMUNE
REMITENTE : LOURDES CHÁVEZ HIDALGO
PROCEDENCIA : LAGUNA
FECHA DE ADMISIÓN : 11/ABRIL/12
OBSERVACIONES :

RESULTADOS

	BASE HÚMEDA %	BASE SECA %
HUMEDAD	98.90	1.10
PROTEÍNA	0.36	32.36
EXT. ETÉREO	0.10	9.50
FIBRA CRUDA	0.11	9.74
CENIZAS	0.17	15.85
EXTRACTO NO NITROGENADO	0.36	32.55

San Borja Abril 23, 2012

QF Mg. TERESA ARBAIZA FERNÁNDEZ
LAB. BIOQUÍMICA, NUTRICIÓN Y
ALIMENTACIÓN ANIMAL

C.C.: ARCHIVO LBNA



• ANEXO 3: BARRIDO ESPECTRAL

